

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS E NATURAIS DO PONTAL
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

**Participação de TP53 no prognóstico de câncer de mama HER2+ utilizando
ferramentas de biologia computacional**

Yago Rafael Cagnoni de Castro

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à
Coordenação do Curso de Ciências Biológicas da
Universidade Federal de Uberlândia, para
obtenção do grau de Bacharel em Ciências
Biológicas.

Ituiutaba - MG

Agosto – 2022

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS E NATURAIS DO PONTAL
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

**Participação de TP53 no prognóstico de câncer de mama HER2+ utilizando
ferramentas de biologia computacional**

Yago Rafael Cagnoni de Castro

Alexandre Azenha Alves de Rezende

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à
Coordenação do Curso de Ciências Biológicas
da Universidade Federal de Uberlândia, para
obtenção do grau de Bacharel em Ciências
Biológicas.

Ituiutaba - MG

Agosto – 2022

Dedico este trabalho a minha mãe, Regina Maria
Cagnoni Lérias Martins, que me deu a dádiva da
vida e possibilitou que eu chegasse até aqui.

Te amo e sou infinitamente grato por tudo.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer primeiramente a minha mãe, Regina Maria Cagnoni Lérias Martins, por me proporcionar a vida e por sempre ter acreditado no meu potencial, espero conseguir retribuir todo o cuidado, amor e carinho. Agradeço também a toda minha família, que auxiliou no meu crescimento, em todos os sentidos da palavra.

Agradeço ao meu orientador e amigo, Alexandre Azenha Alves de Rezende, por ser meu mentor e sensei, me acolhendo desde o começo da minha graduação, e por compartilhar conhecimento pelas conversas esclarecedoras e inspiradoras que temos. Agradeço a todos meus professores de graduação, principalmente às professoras Gabriela Lícia Santos Ferreira, Luciana Karen Calábria e Karine Rezende de Oliveira pelo acolhimento e por auxiliarem minha jornada pela graduação, com ensinamentos que vão além dos acadêmicos.

Agradeço aos meus amigos e companheiros Júlio César Ramos, Gabriela Larissa da Silva, Ana Carolina Cunha, Fabrício Gomes, Iago Cristiano Ferreira, Luis Felipe dos Santos, Nicole Tozzi, Vitoria Rodrigues e todos os outros que encontrei durante minha graduação e fizeram esse período parecer tão breve. Agradeço também aos meus amigos “ex situ” André Luciano Chiara, Isadora Egydio, Rafael Henrique Muffo e Thais Melo por, mesmo com a distância, continuarem comigo nessa jornada, não consigo expressar meu amor e carinho por vocês.

Agradeço a instituição Universidade Federal de Uberlândia por proporcionar a infraestrutura necessária para minha formação e por todas as experiências e pessoas que vieram com ela.

Agradeço também as orientadoras Juliana Miranda e Vanessa Ribeiro pela oportunidade de participar do projeto de extensão “As ideias imagéticas dos alunos do ensino fundamental e médio acerca dos parasitos e a relação dialógica com o material ilustrativo sobre parasitologia” e todos os conhecimentos que vieram com esse trabalho.

Agradeço também ao Programa de Inovação Educação Conectada (PIEC) pela bolsa que disponibilizou ao projeto.

Agradeço a todas as experiências, boas e ruins, que tive durante esse período, que me ajudaram a amadurecer e me tornar a pessoa que sou hoje, espero continuar aprendendo e evoluindo com elas.

RESUMO

O câncer é uma das principais causas de morte no mundo e é uma barreira para o aumento da expectativa de vida mundial. Entretanto, não se pode tratá-lo como uma doença homogênea. O câncer de mama, principal tipo de câncer emergente nos últimos anos, apresenta origens diversas e diferentes classificações, sendo influenciado diretamente no prognóstico da doença. O gene *TP53* que possui 19.070 nucleotídeos (ID:7157) e codifica uma proteína de 393 aminoácidos (ID: AAH03596.1), é descrito como guardião do genoma devido a suas funções de supressor tumoral. Para o gene são descritas diversas alterações, principalmente nos éxons 5, 6, 7 e 8, enquanto para a proteína as alterações resultam, geralmente, na perda da sua função. Cita-se também o gene *ERBB2* que apresenta 40.565 nucleotídeos (ID:2064) e codifica uma proteína de 1255 aminoácidos (ID: BDG00824.1), sendo encontrado superexpresso em câncer HER2+, resultando no aumento da captação de estímulos extracelulares e induzindo maior proliferação celular. Podemos concluir que, apesar dos genes *TP53* e *ERBB2* não participarem diretamente da mesma via de sinalização celular, as mutações em *TP53* acarretam na piora do prognóstico do câncer de mama, já que a célula hiperestimulada a se dividir (devido ao aumento na expressão de *ERBB2*), perde seu principal mecanismo de controle da integridade celular e do DNA, acarretando na instabilidade genômica e acumulando mais danos genéticos com o passar das gerações celulares.

Palavras-chaves: *tumor protein 53*; *ERBB2*; Bioinformática; Marcador genético molecular; Neoplasia; Supressor tumoral; Mutação.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	8
2 OBJETIVOS	13
2.1 Objetivo Geral.....	13
2.2 Objetivos específicos	13
3 METODOLOGIA	14
4 RESULTADOS.....	16
5 DISCUSSÃO	32
6 CONCLUSÕES	39
7 REFERÊNCIAS.....	40

1 INTRODUÇÃO

O câncer é a principal causa de morte e se configura como uma importante barreira para o aumento da expectativa de vida em todos os países do mundo (BRAY et al., 2021) e de acordo com Garraway e Lander (2013), câncer é denominado como a “doença do genoma”, já que ocorre diante da proliferação de clones de células alteradas e detentoras de modificações no seu genoma.

O acúmulo de danos genéticos em proto-oncogenes ativados e genes supressores de tumor inativados é a força motriz na evolução de uma célula normal para uma célula malignizada. Por exemplo, tanto a ativação de oncogenes, quanto a inativação de vários genes supressores, incluindo *TP53*, foram observadas no desenvolvimento de diversos tipos de tumores de cólon e pulmão humanos (ANDERSON et al., 1992).

A proteína supressora tumoral TP53 é uma das principais reguladoras de várias vias de sinalização (Figura 1) e do destino celular (apoptose, diferenciação, entre outros). Como resposta a diversos estressores, como danos ao DNA e ativação de oncogenes, a TP53 sofre modificações pós-traducionais que levam à sua ativação, estabilização e acúmulo na célula. A atividade supressora de tumor de TP53 está, preferencialmente atribuída à regulação transcricional outros genes que estão envolvidos em diversos processos celulares, como parada do ciclo celular, apoptose, senescência, reparo de DNA e diferenciação (MOLCHADSKY et al., 2010; BIEGING; MELLO; ATTARDI, 2014). Em quase 50% dos cânceres humanos, o gene *TP53* está mutado e, em muitos dos casos restantes, onde o alelo selvagem (*TP53WT*) é retido, outros componentes da via em que a proteína atua, possuem alterações (AYLON; OREN, 2011).

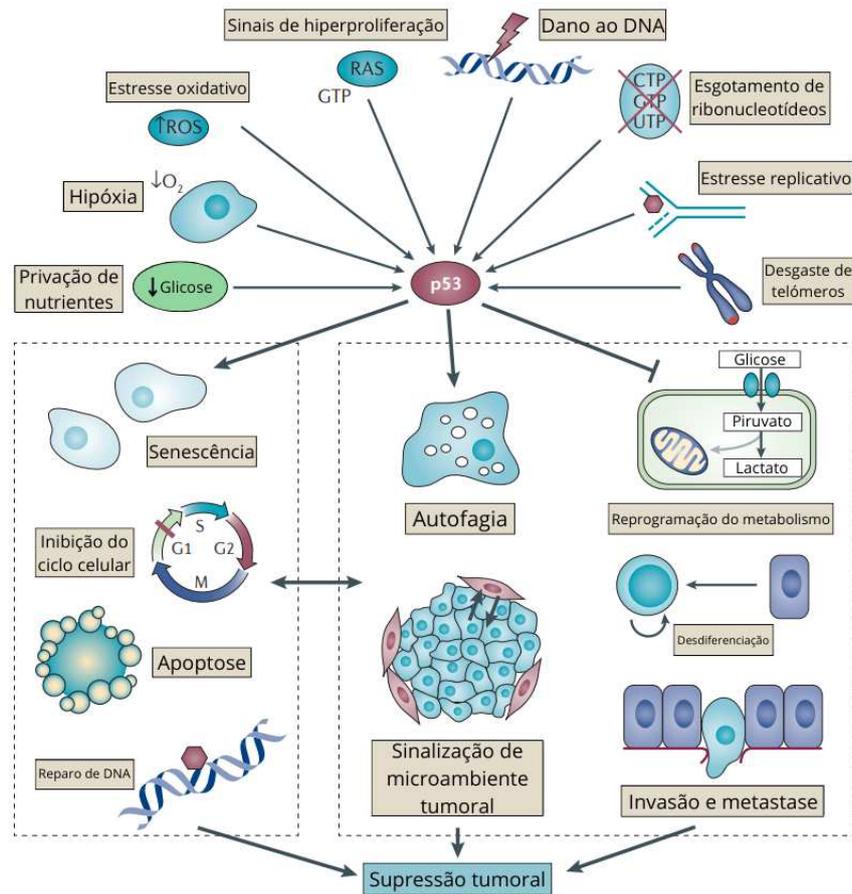


Figura 1: Mecanismos e vias da TP53. **Fonte:** Adaptado de Bieging, Mello e Attardi (2014).

O câncer de mama é o mais frequente, superando o câncer de pulmão, com estimativa mundial de 2.261.419 novos casos e 684.996 novas mortes no ano de 2020 (SUNG et al., 2021). De acordo com os dados do Instituto Nacional do Câncer (INCA, 2019), são estimados cerca de 66 mil novos casos de câncer de mama feminina no Brasil, por ano, no triênio 2020-2022, sendo que foram registradas 17.825 mortes apenas no ano de 2020 (INCA, 2021).

Existem diversas abordagens para o tratamento do câncer de mama e dentre os parâmetros considerados está a estratificação histológica. Segundo a OMS, lesões precursoras de câncer de mama podem ser classificadas em Carcinoma Lobular *in situ* (LCIS) e Carcinoma Ductal *in situ* (DCIS) (SINN; KREIPE, 2013). O LCIS, também conhecido como neoplasia lobular, é considerado raro entre os cânceres de mama *in situ*, e se configura como uma condição benigna em que as células ficam restritas aos lóbulos da mama, podendo ainda ser subclassificados em: LCIS clássico, menos agressivo, e

LCIS pleomórfico, mais agressivo e com maior capacidade de invasão (GIULIANO et al., 2017; MASANNAT et al., 2018).

Por outro lado, o DCIS é considerado como precursor de um câncer mais invasivo e as células alteradas ficam restritas ao ducto de leite (COLLINS et al., 2005; ALLRED, 2010). De 20 a 53% de casos de DCIS podem evoluir para um carcinoma ductal invasivo (IDC), no qual as células alteradas estão dispersas em outras regiões do tecido mamário (SANDERS et al., 2015). Geralmente, o protocolo adotado para mulheres com DCIS consiste em remoção cirúrgica seguida de sessões de radioterapia uma vez que não é possível prever a progressão para IDC (SHAH et al., 2016).

Por meio de análise imunohistoquímica pode-se classificar diferentes subgrupos de câncer de mama com elevada relevância clínica, de acordo com a marcação para o receptor de estrogênio (ER), o receptor de progesterona (PR) e o receptor 2 do fator de crescimento epidermal humano (HER2). Já os subgrupos são luminal A, com elevada expressão de ER e PR e negativo para HER2; luminal B (HER2-), com baixa expressão de ER e/ou PR e negativo para HER2; luminal B (HER2+), com baixa expressão de ER e/ou PR e positivo para HER2; não luminal (HER2+), negativo para ER e PR e positivo para HER2, e o triplo negativo (TNBC), negativo para ER, PR e HER2 (HARBECK et al., 2019). Segundo Ren et al. (2019) a taxa de mortalidade pelo câncer de mama é variável em relação aos subtipos, sendo o HER2+ o responsável pelo maior número de mortes, seguido dos subtipos TNBC, luminal A e luminal B.

Os subtipos moleculares do câncer de mama estão relacionados a diferentes prognósticos, os quais estão relacionados à sobrevida da paciente, além de determinar o curso clínico ou mesmo a possibilidade de recidiva da doença. Há 15 anos a *American Society of Clinical Oncology* recomendou que os níveis de HER2 deveriam ser determinados em todos os casos de câncer de mama invasivo, tornando esta proteína um relevante marcador tumoral de sobrevida, além de um preditivo biomarcador para resposta potencial a terapias (WOLFF et al., 2014; 2018).

O gene *ERBB2*, considerado um proto-oncogene, codifica a proteína HER2. Esta é pertencente à família HER (fator de crescimento epidermal humano), uma proteína transmembrana que atua juntamente com as outras proteínas da mesma família, captando sinais extracelulares e transmitindo moléculas indutoras de crescimento do tecido, diferenciação e sobrevivência para o núcleo celular (YARDEN, 2001). A proteína HER2 está ligada à manutenção da homeostase de crescimento e desenvolvimento do tecido mamário, entretanto, em casos de câncer HER2+, onde a expressão de HER2 é alterada, são observados casos de tumores com crescimento rápido, metástases e invasão de tecidos adjacentes (Figura 2). Esses processos estão relacionados com a agressividade do tumor e resultam em uma diminuição considerável na sobrevivência desse tipo de câncer (SLAMON et al., 1987; 1989).

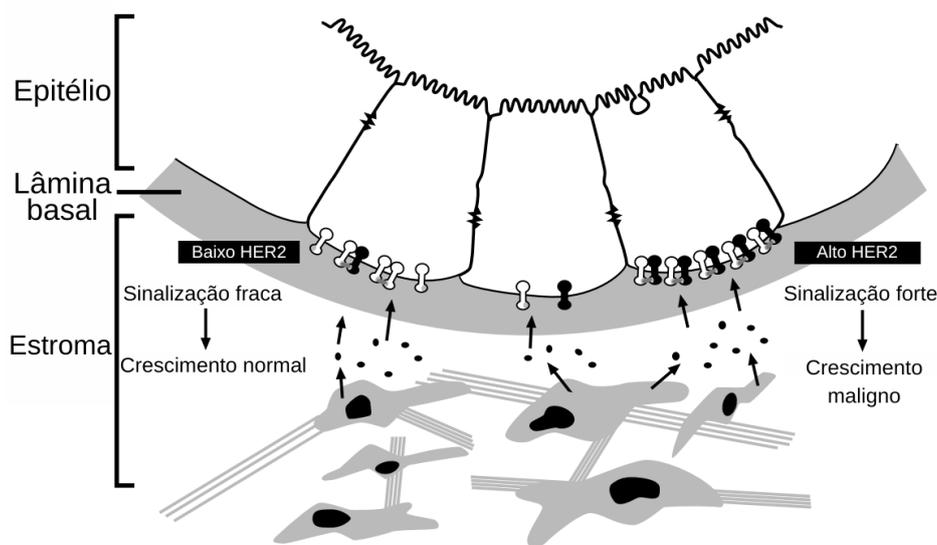


Figura 2: Diferença de resposta celular na expressão normal e superexpressão de HER2. **Fonte:** Adaptado de Yarden (2001).

Os fatores de crescimento são polipeptídeos que estimulam a proliferação das células e podem apresentar papel crucial na carcinogênese. O receptor do fator de crescimento epidérmico (EGFR) é uma das quatro proteínas receptoras do fator de crescimento transmembranar que compartilham semelhanças estruturais e funcionais. O primeiro EGFR descrito foi uma glicoproteína composta de um domínio extracelular, uma região transmembrana e outra intracelular (YARDEN; SLIWKOWSKI, 2001). De

maneira geral, os EGFR quando estimulados por seus ligantes são dimerizados e fosforilados, desencadeando na transdução de sinais que resultam na proliferação de células tumorais e não tumorais. Estudos relacionam a expressão de *HER2* a uma maior agressividade em diversos tipos tumorais, mediando diferentes processos que desencadeiam desde a progressão do tumor até processos de angiogênese (SALOMON et al., 1995; ROMÁN-ROSALES et al., 2018).

O gene *TP53* é encontrado mutado em uma ampla variedade de cânceres humanos e as funções da proteína TP53 de tipo selvagem (P53wt) são frequentemente comprometidas em muitos tipos de cânceres. Estas mutações localizadas no gene *TP53* em células tumorais ocorrem no domínio de ligação ao DNA entre os resíduos de aminoácidos 102-292, levando à perda de função da proteína TP53 (supressão tumoral), passando a ter papel mutante recebendo propriedades oncogênicas o que resulta na geração de tumores mais agressivos e móveis (BAUGH et al., 2018), como no caso do câncer de mama HER2+.

Diante do acima exposto e considerando que os genes *TP53* e *HER2* podem influenciar no aparecimento e progressão de tumores agressivos e metastáticos, considera-se fundamental compreender o comportamento, localização e composição dos mesmos e investigar a atuação deles no prognóstico de câncer de mama HER2+.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Analisar a influência de alterações no gene *TP53* com o prognóstico de câncer de mama HER2+.

2.2 Objetivos específicos

- Descrever a localização e a composição dos genes *TP53* e *ERBB2*;
- Caracterizar bioquimicamente as proteínas associadas com a expressão dos genes *TP53* e *ERBB2*;
- Predizer a localização celular das proteínas TP53 e HER2;
- Investigar as principais alterações no gene *TP53* relacionadas com a piora do prognóstico de câncer de mama do tipo HER2+.

3 METODOLOGIA

O presente estudo foi realizado baseando-se em revisão bibliográfica e no uso de ferramentas de biologia computacional para obtenção de dados genéticos e bioquímicos dos genes e proteínas traduzidas por *TP53* e *ERBB2*. Para tanto, a revisão da literatura foi realizada utilizando-se as bases de dados *Google Scholar*, *SciELO*, *PubMed* e *Periódicos Capes* (Figura 3), tendo como entrada os seguintes descritores: “TP53”, “P53”, “HER2”, “ERBB2”, “mutação”, “tumor”, “câncer humano”, “câncer de mama” e seus correspondentes em inglês, além do termo “AND” para otimizar a busca de dados.

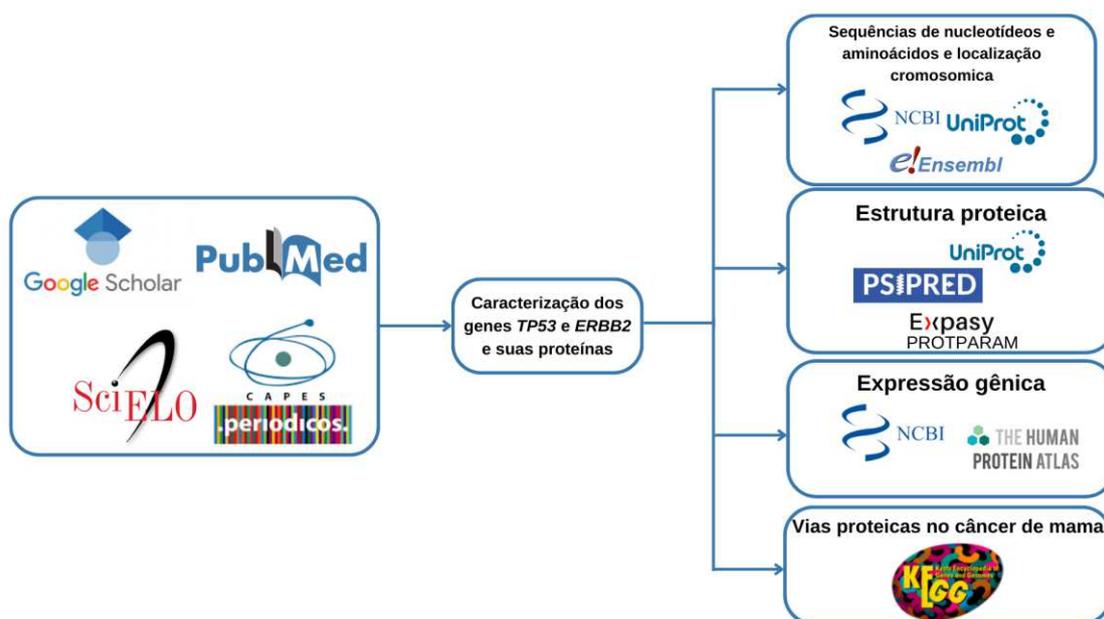


Figura 3: Esquema mostrando os mecanismos de busca utilizados para encontrar os artigos para revisão bibliográfica e os bancos de dados e programas utilizados para analisar e verificar os dados encontrados. **Fonte:** O autor.

A sequência dos resíduos de aminoácidos da *TP53* de *Homo sapiens* no formato FASTA, assim como a sequência de nucleotídeos e a localização cromossômica do gene *TP53* de *H. sapiens* foram obtidas a partir dos bancos de dados *National Center of Biotechnology Information* (NCBI) (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) e *UniProt Knowledgebase* – (UniProtKB) (<https://www.uniprot.org/>), e por meio deste último as

informações sobre função, taxonomia, patologia, interações, expressão, processamento, família e domínios também foram levantadas.

A caracterização molecular da proteína e frequência dos aminoácidos que compõem a TP53 e HER2 foram reveladas por meio da ferramenta ProtParam (<https://web.expasy.org/protparam/>) e do banco de dados Expasy. Pelo *Predict Secondary Structure* (PsiPred) (<http://bioinf.cs.ucl.ac.uk/psipred/>), a estrutura secundária foi predita, incluindo a composição de arranjos e polaridade dos aminoácidos, e para fins de validação, a estrutura secundária também foi obtida no AlphaFold - *Protein Structure Database* (<https://alphafold.ebi.ac.uk/>).

A plataforma *The Human Protein Atlas* (<https://www.proteinatlas.org>) foi acessada para demonstrar a expressão diferencial de RNA e proteína em tecidos e células de humanos para ambos os alvos do presente estudo. A predição da localização celular da proteína TP53 foi obtida e validada pelo software Protter (<https://wlab.ethz.ch/protter/start/>).

Por fim, considerou-se o mapa de sinalização do câncer HER2+ obtido no *Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes* (KEGG) (<https://www.kegg.jp>) e a participação de TP53 no prognóstico da doença, associados aos dados levantados na literatura.

4 RESULTADOS

O gene *TP53* em *H. sapiens* (NCBI Gene ID: 7157) está localizado na região p13.1 do braço curto do cromossomo 17 (Figura 4), e é composto de 11 éxons que determinam a expressão da proteína nuclear TP53. A primeira descrição da proteína expressa por este gene foi feita em 1970 em extrato de oncoproteínas do vírus SV40 e atualmente sabe-se que o gene *TP53* possui aproximadamente 20 kb (ANDRADE et al., 2016).

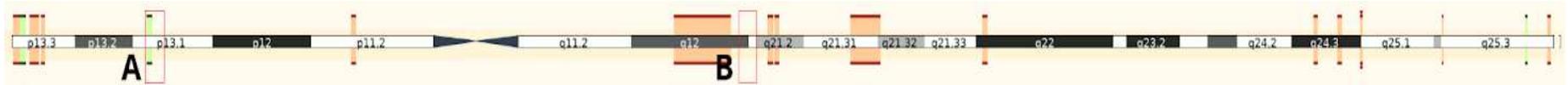


Figura 4: Representação do cromossomo 17, em destaque as regiões codificadoras dos genes *TP53* (A) e *ERBB2* (B). **Fonte:** Adaptado de ENSEMBL (2022a) e ENSEMBL (2022b), respectivamente.

A análise transcriptômica do gene *TP53* (Figura 5) demonstra sua expressão diferencial em 27 tecidos/órgãos humanos, sendo a majoritária em linfonodos e a menor no pâncreas.

Os dados de expressão foram validados por meio do *The Human Protein Atlas*, o qual demonstra que *TP53* está mais expresso no timo e em menor taxa na retina (Figura 6).

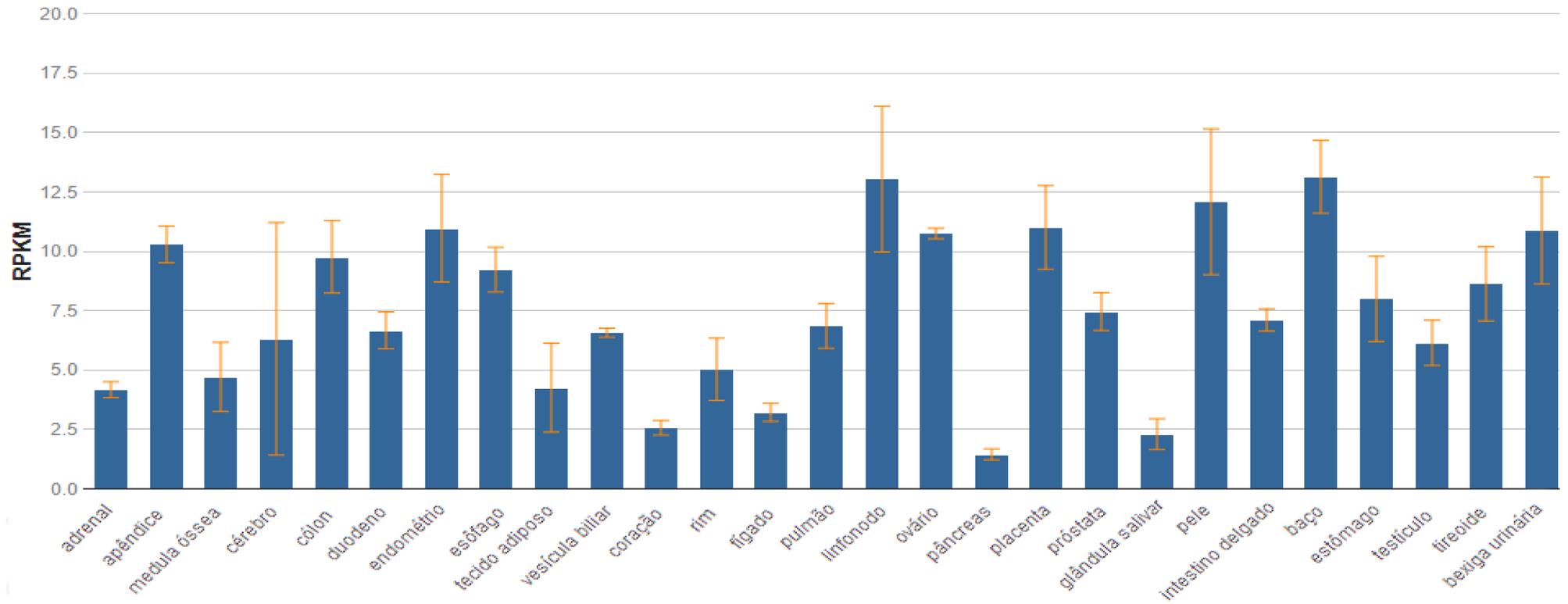


Figura 5: Análise transcriptômica do gene *TP53* de *Homo sapiens* em 27 diferentes tipos de tecidos e órgãos expresso em RPKM (*reads per kilobase por milion mapped reads*), sem especificação do estágio de desenvolvimento. **Fonte:** Adaptada de NCBI (2022a).

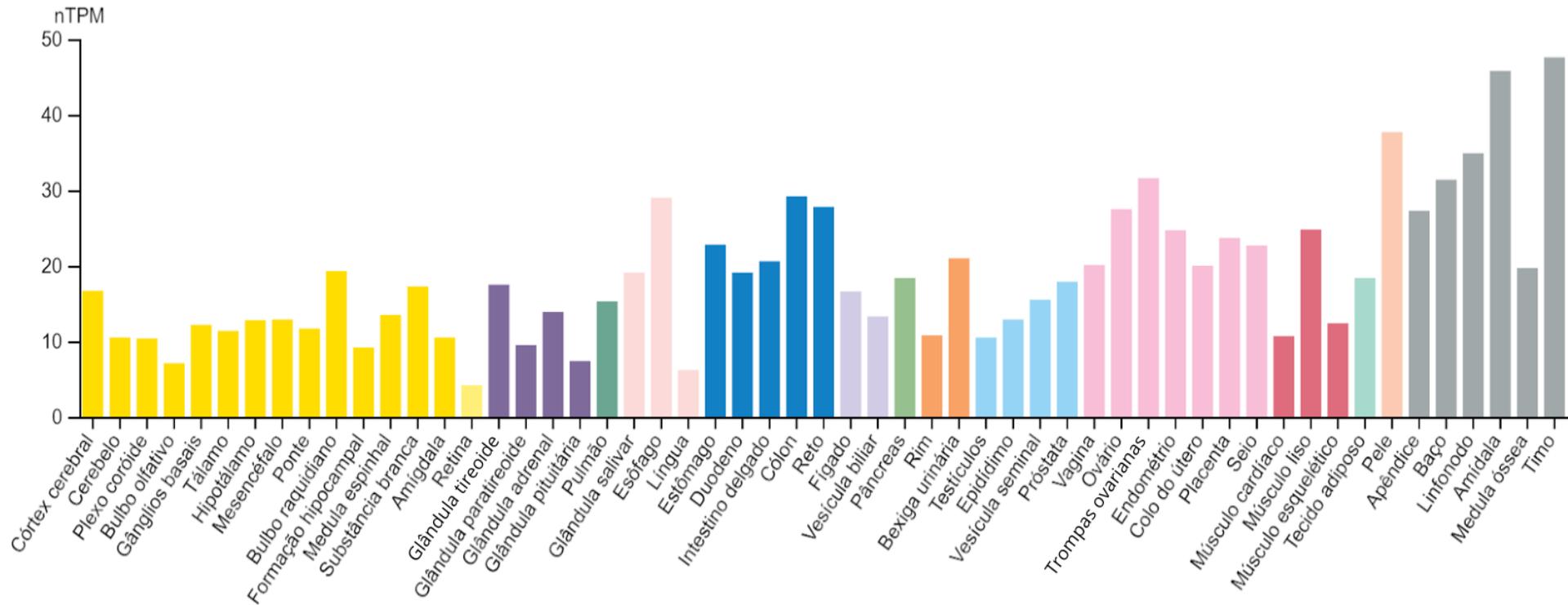


Figura 6: Expressão do gene *TP53* de *Homo sapiens* em diferentes tecidos e tipos celulares do sangue expresso em nTPM (*number of transcripts per million*). **Fonte:** Adaptada de *The Human Protein Atlas* (2022a).

A proteína TP53 apresenta em sua constituição uma cadeia polipeptídica de 393 aminoácidos (Tabela 1 e Figura 7), cinco domínios e dois sinais de localização subcelular, sendo um nuclear (*Nuclear localization signal - NLS*) e outro de exportação nuclear (*Nuclear export signal - NES*) (ZAMBETTI et al., 1992; FETT-CONTE; SALLES, 2002; WANG; EL-DEIRY, 2004).

Tabela 1: Características da proteína TP53, incluindo códigos de acesso, nome de descrição e sequência de aminoácidos no formato FASTA

Código de acesso	Título	Sequência de aminoácidos (1255 aa)
NCBI: AAH03596.1 UniProtKB: P04637	Tumor protein p53 [Homo sapiens]	<pre> >AAH03596.1 Tumor protein p53 [Homo sapiens] MEEPQSDPSVEPPLSQETFSDLWKLLPENNVLSPLPS QAMDDLMLSPDDIEQWFTEDPGPDEAPRMPEAAPRV APAPAAPTPAAPAPAPSWPLSSSVPSQKTYQGSYGFR LGFLHSGTAKSVTCTYSPALNKMFCQLAKTCPVQLW VDSTPPPGTRVRAMAIYKQSQHMTEVVRRCPPHERC SDSDGLAPPQHLIRVEGNLRVEYLDDRNTFRHSVVV PYEPPEVGSDCTTIHNYMCNSSCMGGMNRRLPILTI TLEDSSGNLLGRNSFEVRVCACAGRDRRTEENLRK KGEPHHELPPGSTKRALPNNTSSSPQPKKKPLDGEYF TLQIRGRERFEMFRELNEALELKDAQAGKEPGGSRA HSSHLKSKKGQSTSRHKKLMFKTEGPDS </pre>

Fonte: O Autor. Dados extraídos do NCBI (2022a) e UniProtKB (2022a).

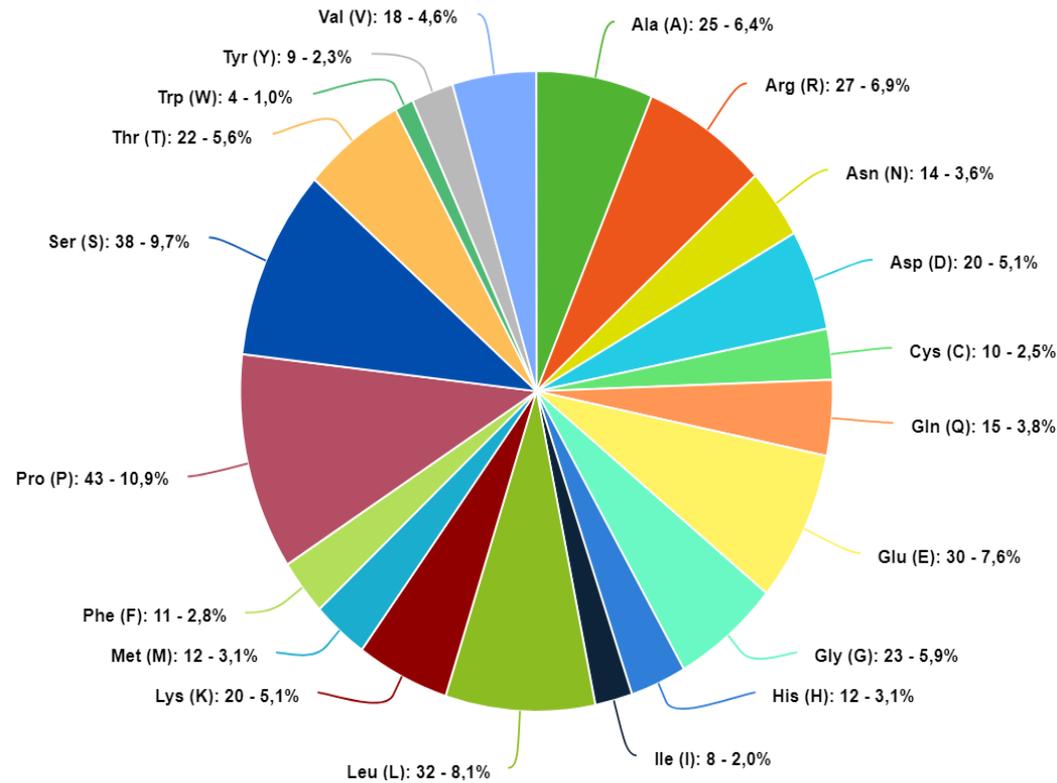


Figura 7: Contribuição (absoluta e percentual) dos aminoácidos da proteína TP53. **Fonte:** Adaptado de ProtParam utilizando a sequência no formato FASTA (NCBI: AAH03596.1).

A composição da TP53 foi analisada utilizando o Psipred, o qual identifica os aminoácidos de acordo com suas características (apolares, polares, hidrofóbicos e aromáticos). De acordo com os resultados obtidos, a TP53 é composta majoritariamente por aminoácidos apolares (Figura 8).

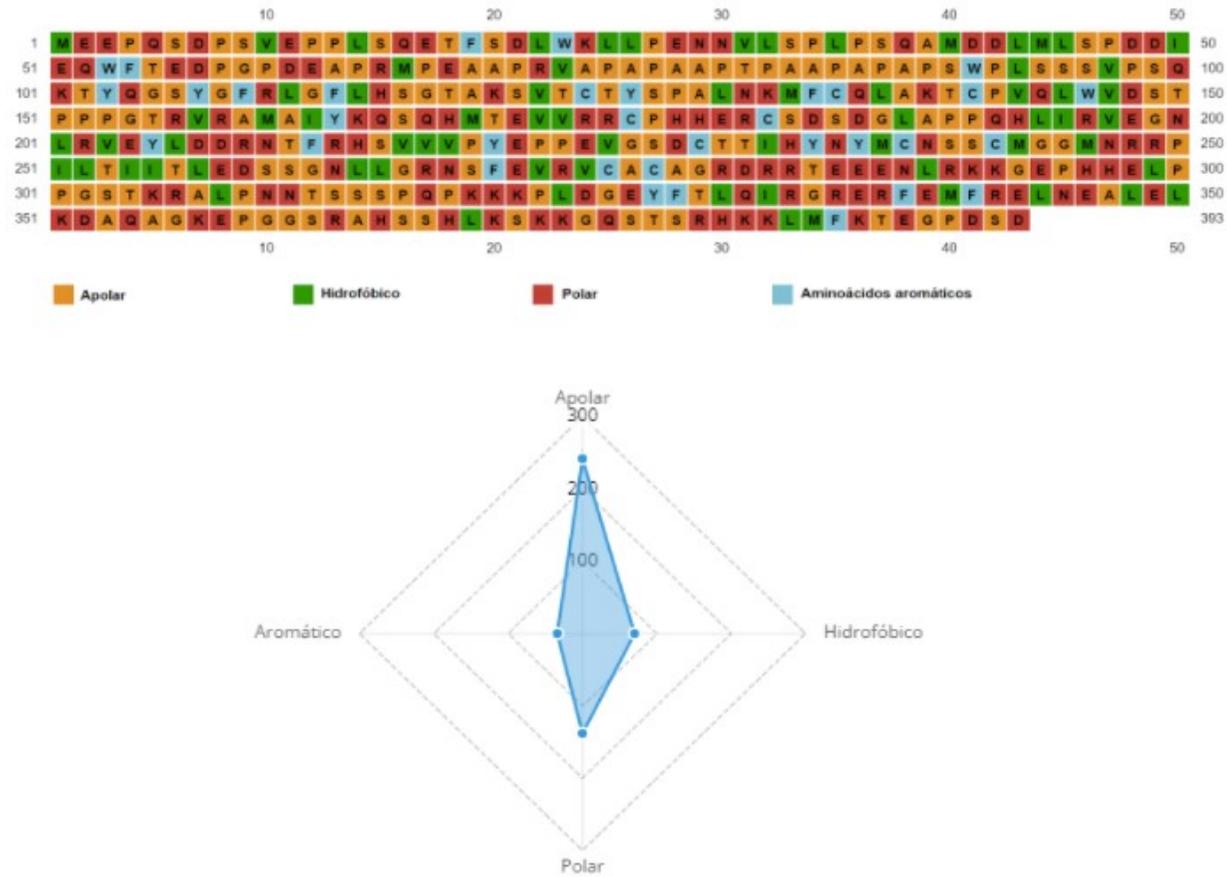


Figura 8: Prevalência de aminoácidos polares (vermelho), apolares (laranja), hidrofóbicos (verde) e aminoácidos aromáticos (azul) que compõem a sequência primária da TP53. **Fonte:** Adaptado de Psipred utilizando a sequência no formato FASTA (NCBI: AAH03596.1).

A estrutura tridimensional da TP53 (Figura 9) foi predita pelo programa AlphaFold, visto que as estruturas cristalográficas disponíveis no UniProtKB apresentavam apenas algumas cadeias e/ou a proteína ligada a outras proteínas e ligantes, dificultando a visualização e alterando a sua conformação.

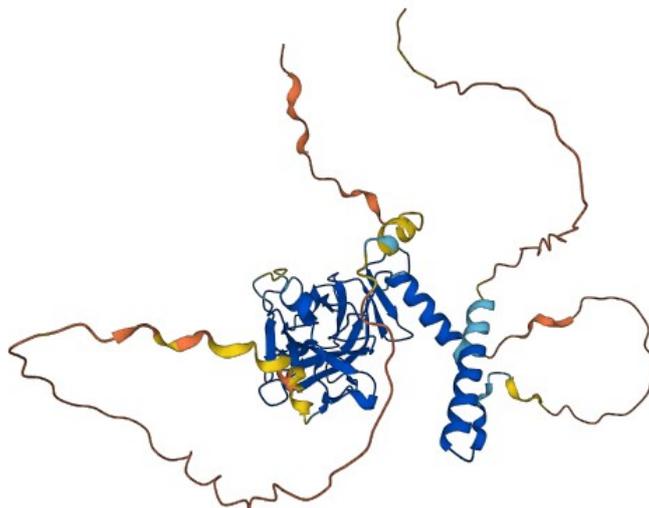


Figura 9: Estrutura tridimensional da proteína TP53 predita pelo AlphaFold utilizando o UniProtKB (P04637). **Fonte:** UniProtKB (2022a).

A predição da localização da TP53 em relação à membrana evidenciou aminoácidos que passam por modificação pós-traducional (verde) e os aminoácidos variáveis (amarelo) na estrutura da proteína (Figura 10).

O gene *ERBB2* (NCBI Gene ID: 2064) também está localizado no cromossomo 17, na posição 17q12 (Figura 4) e é formado por 35 éxons, aproximadamente 40kb, que codifica a proteína transmembrana HER2 de 1255 aminoácidos (Tabela 2). A HER2 possui três grandes domínios, o domínio receptor extracelular, o domínio de ancoragem intramembranoso e o domínio citoplasmático de tirosina-quinases, sendo o último subdividido em outros quatro subdomínios e um sinal de localização (COUSSENS et al., 1985; LOHRISCH; PICCART, 2001; KUYAMA et al., 2014).

Tabela 2: Características da proteína ERBB2, incluindo códigos de acesso, nome de descrição e sequência de aminoácidos no formato FASTA

Código de acesso	Título	Sequência de aminoácidos (1255 aa)
NCBI: BDG00824.1 UniProtKB: P04626	Receptor tyrosine-protein kinase erbB-2 isoform a precursor [Homo sapiens]	>BDG00824.1 receptor tyrosine-protein kinase erbB-2 isoform a precursor [Homo sapiens] MELAALCRWGLLLALLPPGAASTQVCTGTDMKL RLPASPETHLDMLRHLYQGCQVVQGNLELTYLPT NASLSFLQDIQEVQGYVLIAHNQVRQVPLQRLRIV RGTQLFEDNYALAVLDNGDPLNNTTPVTGASPGG LRELQLRSLTEILKGGVLIQRNPQLCYQDTILWKDI FHKNNQLALTLIDTNRSRACHPCSPMCKGSRCWG ESSEDCQSLTRTV CAGGCARCKGPLPTDCCHEQC AAGCTGPKHSDCLACLFHFNHSGICELHCPALVTY NTDTFESMPNPEGRYTFGASCVTACPYNYLSTDV GSCTLVCP LHNQEVT AEDGTQRCEKCSKPCARVC YGLGMEHLREVRVAVTSANIQEFAGCKKIFGSLAFL PESFDGDPASNTAPLQPEQLQVFETLEEITGYLYIS AWPDSLPLDSVFNQLQVIRGRILHNGAYSLTLQGL GISWLGLRSLRELGSGLALIHNTLHLCFVHTVPWD QLFRNPHQALLHTANRPEDECVGEGLACHQLCAR GHCWGPPTQCVNCSQFLRGQECVEECRVLQGLP REYVNARHCLPCHPECQPQNGSVTCFGPEADQCV ACAHYKDPPFCVARCPSGVKPDLSYMPIWKFPDE EGACQPCPINCTHSCVDLDDKGCPAEQRASPLTSII SAVVGILLVVVLGVVFGILIKRRQOKIRKYTMRRL LQETELVEPLTPSGAMPNQAQMRILKETELRKVK VLGSGAFGTVYKGIWIPDGENVKIPVAIKVLRENT SPKANKEILDEAYVMASVGSPIVSRLLGICLTSTV QLVTQLMPYGCLLDHVRENRRGLGSQDLLNWCM QIAKGMSYLEDVRLVHRDLAARNVLVKSPNHVKI TDFGLARLLDIDETEHADGGKVPIKWMALESILR RRFTHQSDVWSYGVTVWELMTFGAKPYDGI PAR EIPDLLEKGERLPQPPICTIDVYMIMVKCWMIDSE CRPRFREL VSEFSRMARDPQRFVVIQNE DLGPASP LDSTFYRSLLEDDDMGDLVDAEEYLVPQQGFFCP DPAPGAGGMVHHRHRSSSTRSGGGDLTLGLEPSE EEAPRSPLAPSEGAGSDVFDGDLGMGA AKGLQSL PTHDPSP LQRYSEDPTVPLPSETDGYVAPLTCSPQP EYVNQPDVRPQPPSPREGPLPAARPAGATERPKTL SPGKNGVVKDVFAFGGAVENPEYLT PQGGAAPQP HPPPAFSPA FDNLYYWDQDPPERGAPPSTFKGTPT AENPEYLG LDVV

Fonte: O Autor. Dados extraídos do NCBI (2022b) e UniProtKB (2022b).

A proteína HER2, descrita pela primeira vez em 1981, foi identificada em neuro e glioblastomas de ratos (SHIH et al., 1981), e pertence a uma família de proteínas receptoras tirosina-quinases transmembranas conhecidas como HER ou ERBB. Esta família possui quatro proteínas (HER1, HER2, HER3 e HER4) (LOHRISCH; PICCART, 2001).

De acordo com o ProtParam (Figura 11), a HER2 é constituída majoritariamente por leucina (11%) e, em menor frequência, triptofano (1,2%). De acordo com o Psipred, a proteína HER2 (Figura 12) é constituída de quantidades equivalentes de aminoácidos apolares, polares e hidrofóbicos.

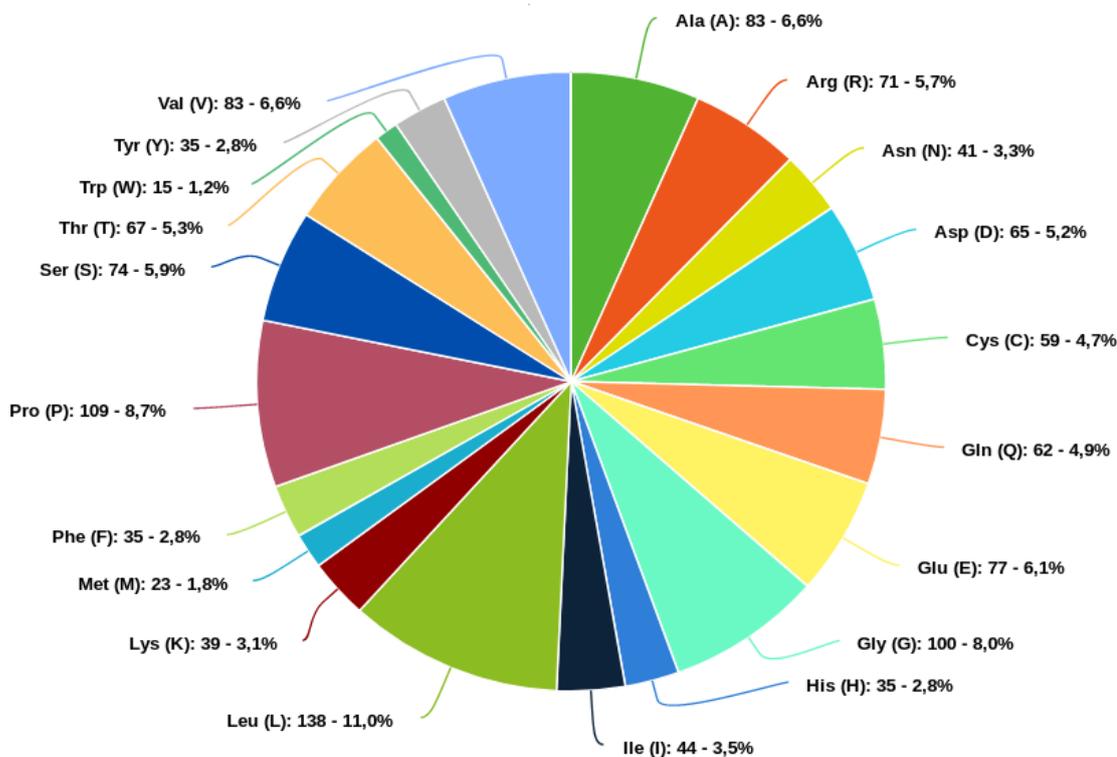


Figura 11: Contribuição (absoluta e percentual) dos aminoácidos da proteína HER2. **Fonte:** Adaptado de ProtParam utilizando a sequência no formato FASTA (NCBI: BDG00824.1).

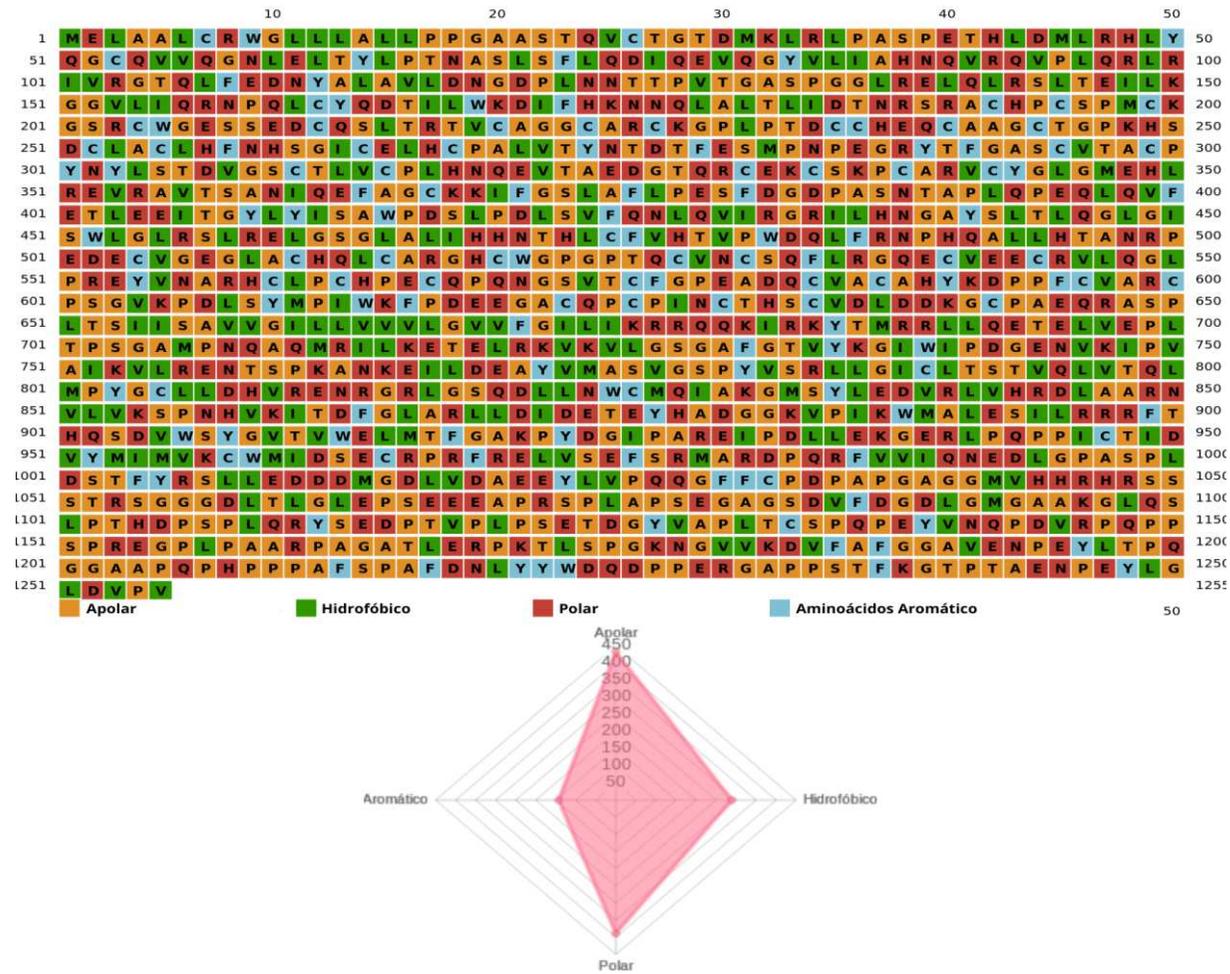


Figura 12: Prevalência de aminoácidos polares (vermelho), apolares (laranja), hidrofóbicos (verde) e aminoácidos aromáticos (azul) que compõem a sequência primária da HER2. **Fonte:** Adaptado de Psipred utilizando a sequência no formato FASTA (NCBI: BDG00824.1).

A estrutura tridimensional HER2 (Figura 13) também foi predita pelo programa AlphaFold. As dificuldades de obtenção de estruturas cristalográficas foram as mesmas encontradas para a TP53.

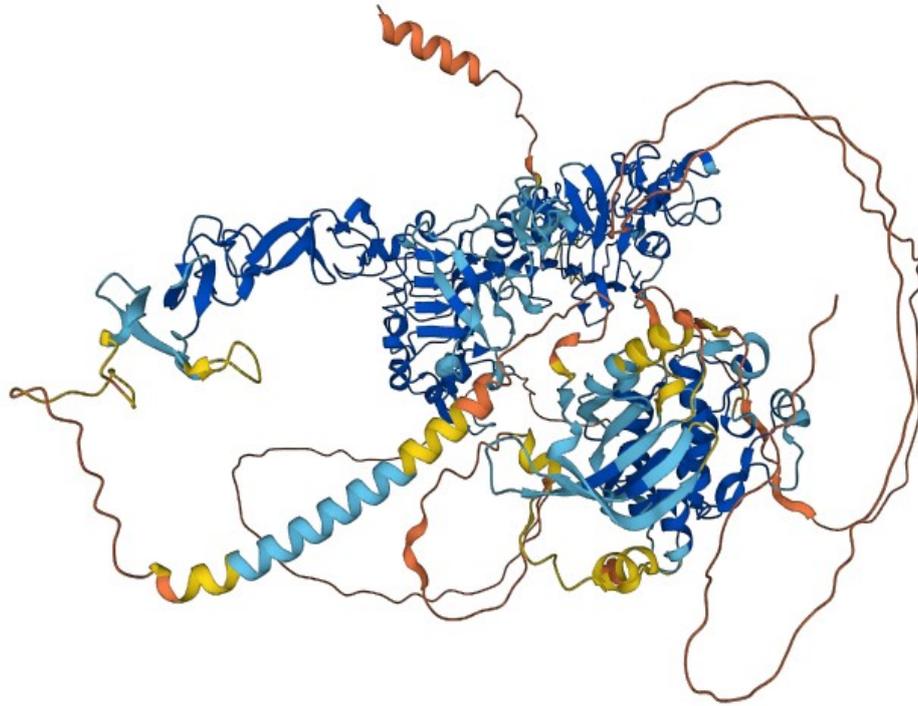


Figura 13: Estrutura tridimensional da proteína HER2 predita pelo AlphaFold utilizando o UniProtKB (P04626). **Fonte:** UniProtKB (2022b).

A predição da localização da HER2 foi obtida por meio do Protter. Alguns aminoácidos estão destacados na figura, sendo em vermelho os que constituem o peptídeo sinal, em verde os que passam por modificação pós-traducional, em amarelo os variáveis e em verde fluorescente os unidos por ligação dissulfeto (Figura 14).

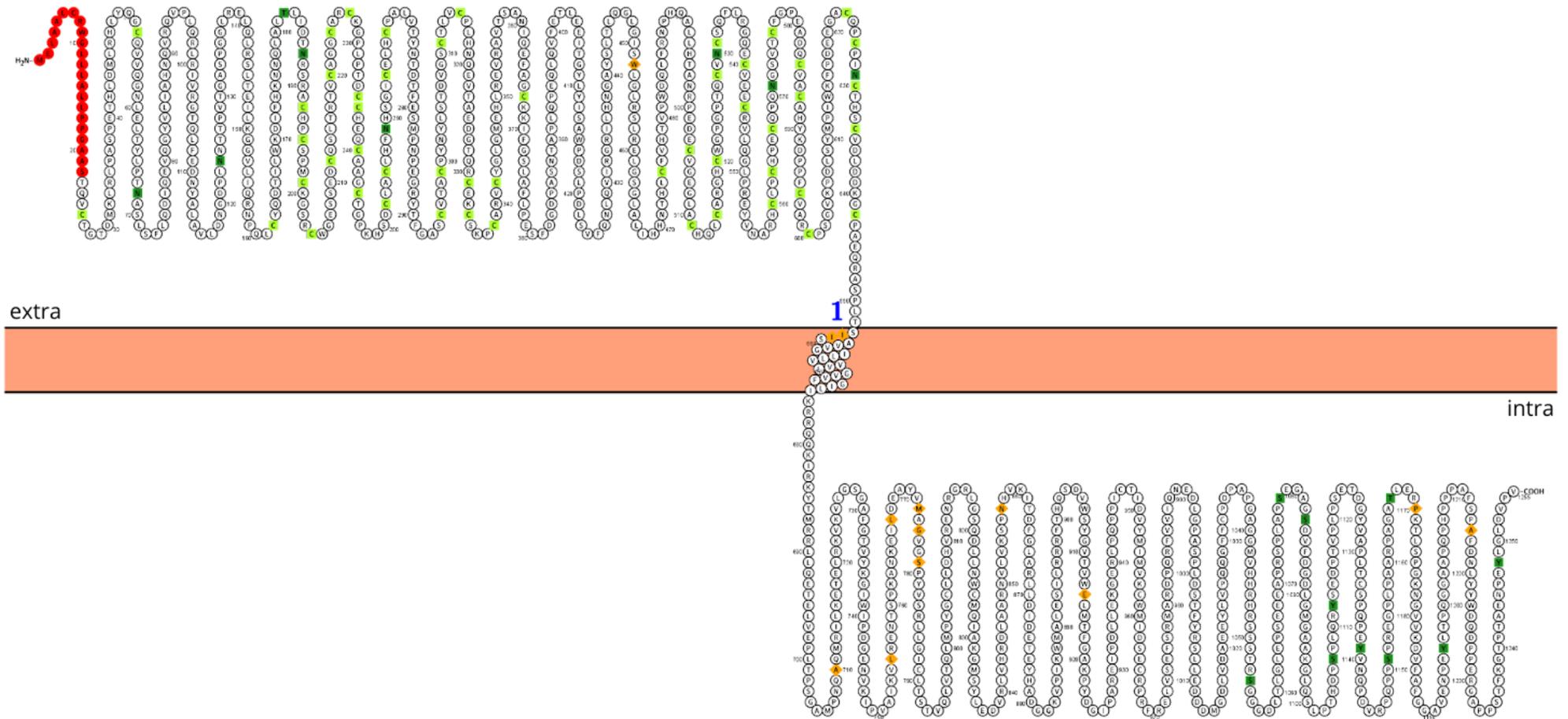


Figura 14: Localização da proteína HER2 em relação à membrana celular e a composição de aminoácidos. As regiões de modificação pós-traducional estão destacadas em verde, os aminoácidos variáveis em amarelo, peptídeo sinal em vermelho e as ligações dissulfeto em verde fluorescente. O numeral 1 representa a ancoragem transmembrânica. **Fonte:** Adaptado de Protter utilizando a sequência no formato FASTA (NCBI: BDG00824.1).

Utilizando os dados obtidos pelo NCBI de expressão de *ERBB2*, nota-se que este gene é mais expresso no rim e menos na medula (Figura 15). Por outro lado, de acordo com *The Human Protein Atlas* (Figura 16), a menor taxa de expressão também é na medula, porém, a maior expressão é no esôfago.

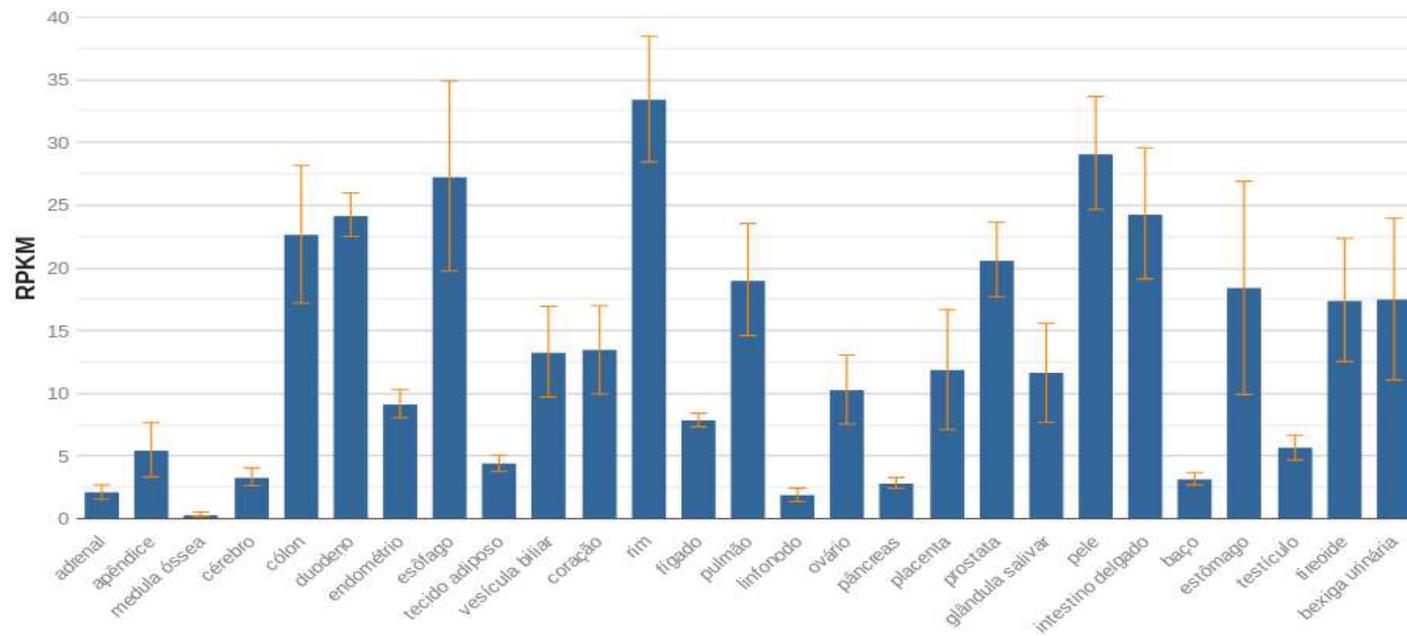


Figura 15: Análise transcriptômica do gene *ERBB2* de *Homo sapiens* em 27 diferentes tipos de tecidos e órgãos expresso em RPKM (*reads per kilobase por milion mapped reads*), sem especificação do estágio de desenvolvimento. **Fonte:** Adaptada de NCBI (2022b).

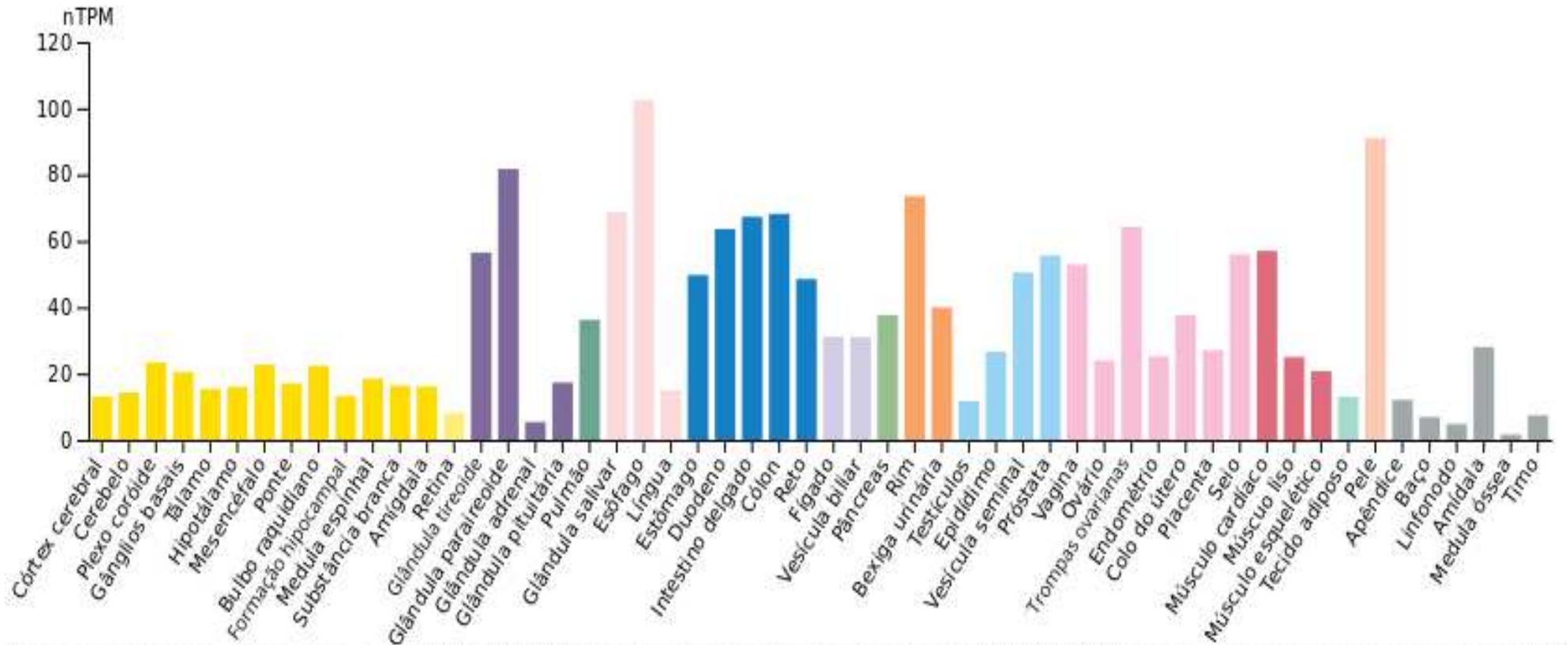


Figura 16: Expressão do gene *ERBB2* de *Homo sapiens* em diferentes tecidos e tipos celulares do sangue expresso em nTPM (*number of transcripts per million*). **Fonte:** Adaptada de *The Human Protein Atlas* (2022b).

Embora as proteínas TP53 e HER2 não façam parte da mesma via, elas atuam sobre a mesma função, a divisão celular, portanto afetam o funcionamento uma da outra (Figura 17). Após a ligação do ligante específico ao receptor HER2, há a dimerização e a internalização deste receptor e, subsequentemente, irá acontecer a autofosforilação dos resíduos citoplasmáticos de tirosina quinase, desencadeando na fosforilação de outras proteínas, promovendo a transdução de sinal e a ativação de respostas celulares. Quando fosforilado, o receptor HER2 recrutará as proteínas Shc e Grb2, que por meio de Sos, ativará Ras. Em cascata, ocorrerá a ativação de Raf (via sinalização de MAPK), levando à fosforilação de MEK e ErK1/2, promovendo a expressão de fatores de crescimento com consequente divisão celular, regulada pela TP53 (KEGG, 2022).

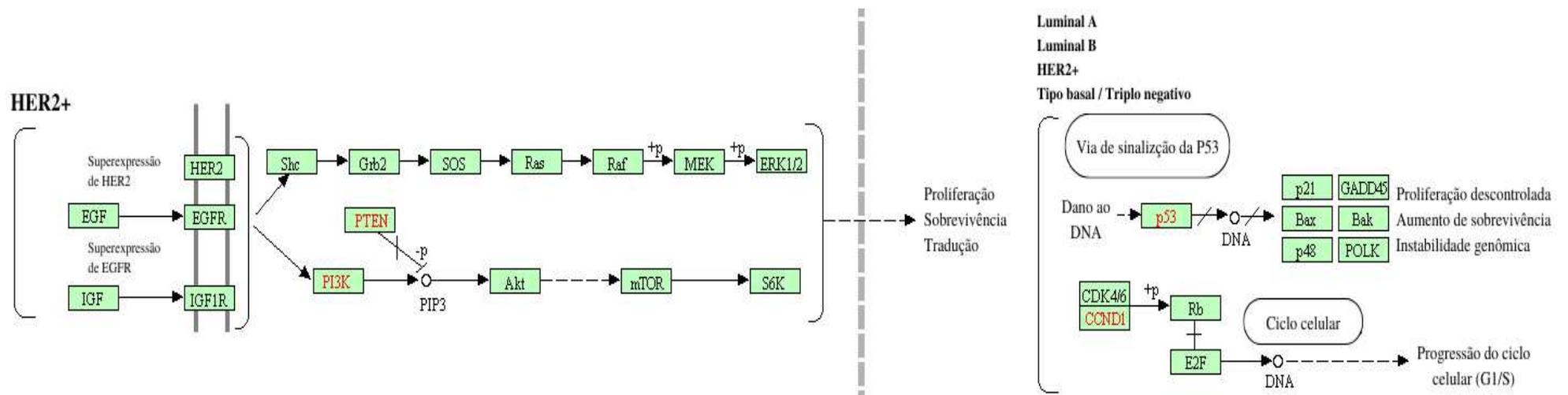


Figura 17: Vias de ação das proteínas HER2 e TP53 em câncer de mama, confirmando a atuação em vias distintas, porém ambas regulando a divisão celular e proliferação do tecido. **Fonte:** Adaptado de KEGG (2022).

5 DISCUSSÃO

O funcionamento das células ocorre por cascatas de funções que têm início na expressão e transcrição genética. A expressão gênica causa a diferenciação das células e a transcrição traduz as proteínas para que cada célula exerça sua função, sendo elas utilizadas para as mais diversas tarefas celular, inclusive para aumentar, diminuir e possibilitar a expressão de genes. Isso faz com que genes possam regular outros genes por meio das proteínas que eles traduzem, formando uma complexa rede de expressão gênica e atuação dos mecanismos celulares frente às proteínas produzidas (MUNSKY; NEUERT; VAN OUDENAARDEN, 2012).

Eventualmente, algum gene regulador pode sofrer alterações que modifiquem ou impossibilitem sua função inicial, causando alterações na cascata que ele participa. Por outro lado, existem genes que tem como função principal a manutenção da integridade genética e, quando sofrem alterações que impossibilitam sua ação, as células se tornam mais propensas a perpetuar alterações genômicas, as quais podem levar à modificações no funcionamento celular e, dependendo da alteração, também podem desencadear o processo tumorigênico (TORRY; COOPER, 1991).

O câncer é primariamente caracterizado como uma massa de células que se dividem descontroladamente, entretanto, para que esse comportamento seja possível é necessário que a célula manifeste certas características. Hanahan e Weinberg (2011) apresentam dez marcos que devem ser alcançados para que uma célula complete o processo e se torne uma célula tumoral, a saber: 1) Fuga de supressores de crescimento; 2) Fuga da destruição pelo processo imune; 3) Possibilidade da imortalidade replicativa; 4) Inflamação promovida pelo tumor; 5) Invasão e metástase; 6) Indução de angiogênese; 7) Instabilidade genômica e mutação; 8) Resistência à morte celular programada; 9) Desregulação da bioenergética celular; e 10) Manutenção dos sinais de proliferação.

Existem diferentes tipos de câncer, cada um com sua particularidade, inclusive cânceres que acometem o mesmo órgão apresentam características diferentes uns dos outros. Um exemplo é o câncer de mama que possui sete classificações diferentes relacionadas ao subtipo molecular que expressam. As diferentes classificações são: tipo basal (ou triplo negativo), tipo mamário normal, luminal, molecular apócrino, baixa expressão de claudina, relacionado ao interferon e o tipo HER2+ (WEIGELT; GEYER; REIS-FILHO, 2010), objeto deste estudo.

HER2 é um dos receptores da família tirosina-quinase (TK), e está localizado na superfície da célula (Figura 14), sendo constituído de diferentes domínios: extracelular, transmembrana e intracelular. O primeiro é responsável pela interação com o seu ligante, o segundo é constituído de uma alfa-hélice hidrofóbica e no último há o resíduo com atividade TK (TIBES; TRENT; KURZROCK, 2005). Receptores acoplados à TK são responsáveis por regular diversos eventos celulares, independente se a célula é tumoral ou não (LEMMON; SCHLESSINGER, 2010). Já foram descritos cerca de 12 tipos de ligantes extracelulares como neuregulinas, heregulinas, dentre outros. A interação entre o receptor da família HER e o seu ligante, resulta em homo ou heterodimerização e consequente fosforilação dos resíduos de TK, os quais podem atuar como sítios ligantes para outras moléculas de sinalização que participam de cascatas relacionadas a processos que favorecem a proliferação de células tumorais e invasão (YARDEN; SLIWKOWSKI, 2001; ROSKOSKI, 2004; LEMMON; SCHLESSINGER, 2010).

O câncer HER2+ é caracterizado pela superexpressão de proteínas HER2 na membrana plasmática da célula mamária, induzindo maior taxa de divisão de células e crescimento tecidual. De acordo com a literatura, a superexpressão de HER2 pode ocorrer devido à amplificação (SLAMON et al., 1989) ou pela multiplicação (SESHADRI et al., 1993) do gene *ERBB2* no genoma, podendo ser de duas a vinte vezes maior que a quantidade esperada em células não tumorais (SLAMON et al., 1987), gerando aumento

de até vinte vezes nos níveis da proteína HER2 na membrana da célula (PEGRAM; KONECNY; SLAMON, 2000). O câncer de mama HER2+ é o mais agressivo, invasivo e metastático comparado com outros tipos de cânceres de mama (TRAINA et al., 2006), principalmente quando associado às alterações em *TP53*, uma vez que este gene regula diversos mecanismos de supressão tumoral.

Existem genes que regulam atividades de divisão e controle de ciclo celular: 1) proto-oncogenes, que codificam proteínas conhecidas como fatores de crescimento, responsáveis por induzirem o processo de divisão e diferenciação; 2) genes supressores de tumor, que codificam proteínas que, geralmente regulam negativamente a divisão celular; e 3) genes de reparo de danos ao DNA, que impedem o acúmulo de mutações que poderiam causar instabilidade genômica e até mesmo o câncer. Geralmente estes genes são considerados proto-oncogenes, pois, quando em funcionamento ideal, agem na manutenção da homeostase dos processos de divisão da célula; entretanto, quando um proto-oncogene apresenta uma alteração na sua expressão ou mutação que aumente ou diminua sua função, pode ocorrer desse proto-oncogene não conseguir regular o ciclo corretamente, induzindo a carcinogênese, tornando-se assim um oncogene (WILLECKE; SCHÄFER, 1984; TORRY; COOPER, 1991; ANDERSON et al., 1992; CHIAL, 2008). Tanto o gene *ERBB2* quanto o *TP53* são considerados proto-oncogenes e podem tornar-se oncogenes em caso de aumento de expressão ou mutação, respectivamente.

A proteína expressa pelo gene *TP53* em uma célula não tumoral atua como reguladora do ciclo celular, sinalizadora de dano no material genético, indutora de apoptose e da senescência celular, além de atuar na sinalização anti-angiogênica, autofagia e metabolismo antioxidante, tudo isso por meio de sinalização e recrutamento de outras proteínas (JOERGER; FERSHT, 2016). Em células em que a TP53 perde sua função são geralmente encontradas mutações *missense* (aproximadamente 90% dos casos de mutação) na região do gene *TP53* que traduz a porção ligante ao DNA, nos éxons 5, 6, 7 e 8 (BAUGH et al., 2018). Essas mutações fazem com que a proteína TP53 perca sua

habilidade de ligação ao DNA, impedindo que sinalize dano ao material genético e a parada do ciclo celular, perpetuando e acumulando falhas genéticas nas gerações descendentes da célula.

O gene *TP53* pode estar amplamente expresso e distribuído no corpo humano, como na tireoide, testículo, pele, rim, fígado, esôfago, cérebro, pulmão, ovário, estômago, próstata, medula óssea, entre outros locais (KILLELA et al., 2013; TANDON et al., 2015; SCHNEIDER et al., 2022) predispondo o aparecimento do câncer em diferentes tecidos e órgãos.

Cerca de 60% das neoplasias apresentam como característica mutações no gene *TP53*, com expressão anormal da proteína TP53. Essa molécula mutante possui vida média mais prolongada, sendo funcionalmente incapaz de exercer atividade supressora de crescimento celular e pode ser utilizada como marcador de agressividade tumoral (PEREIRA; CAMARGO; MEDEIROS-NETO, 2000; JÚNIOR; KLUMB; MAIA, 2002).

Geralmente, as mutações em TP53 são divididas em dois grupos. O primeiro grupo agrupa as mutações de contato com o DNA (DBD), as quais afetam os domínios que estão envolvidos na ligação ao DNA, como P53 R248Q e P53 R273H. O outro grupo é estabelecido com mutações conformacionais que distorcem parcialmente ou totalmente o DBD, como P53 R175H e P53 H179R (STEIN; ROTTER; ALONI-GRINSTEIN, 2019).

Das mutações, cerca de 10% delas são de perda de função por meio de mutações *nonsense* ou *frameshift* e deleções, enquanto o restante inclui mutações *missense* que produzem uma proteína com significativas alterações. Esta perda de função gera mutações que reduzem a capacidade da proteína mutante ligar-se especificamente à sequência que interfere na transcrição de genes regulados por TP53. Entre os cânceres humanos com mutações TP53, a maioria é *missense* com alelos mutantes TP53 idênticos em todas as cópias do cromossomo 17 (BAUGH et al., 2018). Ainda, podem ocorrer

mutações no gene *TP53* que induzem funções pro-oncogênicas na proteína traduzida, denominada de TP53 mutante com ganho de função. Geralmente este ganho de função é definido por alterações que aumentam ou diminuem o recrutamento de outras proteínas pela TP53 (DARB-ESFAHANI et al., 2016; STEIN; ROTTER; ALONI-GRINSTEIN, 2019).

Embora algumas respostas celulares específicas dependam do funcionamento da TP53 como ativadora de transcrição e da indução de alguns genes alvo, a cascata de supressão tumoral ainda permanece não resolvida (BIEGING; MELLO; ATTARDI, 2014). O modelo mais antigo para explicar o mecanismo relacionado à atividade supressora de tumor de TP53 foi baseado na descrição de *TP53* como o “guardião do genoma”. Neste modelo, TP53 induz parada transitória do ciclo celular G1 em resposta a sinais de dano ao DNA, permitindo que as células reparem seus genomas antes de prosseguirem pelo ciclo celular, limitando assim a propagação de mutações potencialmente oncogênica (LANE, 1992).

As mutações na maioria dos supressores tumorais acarreta na inviabilidade de produção das proteínas, proteínas truncadas e até mesmo instáveis. Por outro lado, sabe-se que a TP53 adquire mutações *missense* que levam à produção de uma proteína de comprimento normal e que tende a se acumular em células tumorais (ROTTER, 1983; BÁRTEK et al., 1991). As mutações *missense* mais comuns acometem seis aminoácidos “*hot-spot*”, sendo a maioria delas encontrada no DBD de TP53 e anula sua atividade transcricional (STEIN; ROTTER; ALONI-GRINSTEIN, 2019).

Em relação aos carcinomas HER2+, nos casos em que a TP53 é encontrada no seu tipo selvagem (P53wt), ela cumpre seu papel de identificar a superexpressão de HER2, inibe o ciclo celular e induz apoptose. Entretanto, em caso de mutação no gene *TP53* ocorre menor taxa de interrupção no ciclo e mais células permanecem com capacidade proliferativa (CASALINI; BOTTA; MÉNARD, 2001). Mutações no gene TP53, independente da região acometida, podem acarretar na perda de função da proteína e esta

alteração resulta no mesmo prognóstico para todos os cânceres HER2+ (DARB-ESFAHANI et al., 2016).

Assim como a TP53, a proteína HER2 está relacionada com a regulação do ciclo celular, atuando como indutora de divisão celular e crescimento do tecido, juntamente com as outras proteínas da família HER, formando heterodímeros que captam sinais químicos de fora da célula e liberam moléculas indutoras de divisão celular que são levadas para o núcleo. Em células tumorais mamárias HER2+, o gene *ERBB2* é encontrado superexpresso ou com diversas cópias no cromossomo em 35% dos casos de câncer de mama, ocasionando na superpopulação de receptores HER2 na membrana, aumentando a sensibilidade a sinais químicos extracelulares, que resultam em divisão celular. O resultado final são tumores com crescimento acelerado, alta agressividade e atividade metastática (PAULETTI et al., 1996; YARDEN, 2001; HICKS; KULKARNI, 2008; THE CANCER GENOME ATLAS NETWORK, 2012; DARB-ESFAHANI et al., 2016).

Os receptores da família HER são fundamentais no crescimento e desenvolvimento de órgãos e sistemas. Por outro lado, no câncer de mama HER2+, este receptor está associado ao prognóstico desfavorável e aumento do risco de recidiva. Este subtipo molecular corresponde a cerca de 20% dos casos e as mulheres portadoras desta alteração possuem o pior prognóstico (WOLF et al., 2014).

Em casos de câncer HER2+ com P53wt, a superexpressão do gene *ERBB2* costuma ser reduzida quando comparado com casos de câncer HER2+ e com expressão de TP53 mutante. Geralmente, células neoplásicas com P53wt sofrem apoptose após a parada do ciclo celular (CASALINI; BOTTA; MÉNARD, 2001). Em cânceres HER2+ a combinação da superexpressão com mutação em *TP53* que cause perda de função ocorre em mais de 50% dos casos, e potencializa a agressividade, invasibilidade, capacidade metastática e, muitas vezes, piora o prognóstico de mortalidade aumentando em 69%

(*Hazard Ratio* de 1,69) quando comparado com câncer HER2+/P53wt (SILWAL-PANDIT et al., 2014; DARB-ESFAHANI et al., 2016).

A indução na formação de câncer HER2+ a partir de mutantes de TP53 (P53 R248Q e P53 R273C) ocorre devido a ligação dos mutantes na região promotora do gene *ERBB2*, induzindo a acetilação das histonas e aumentando a expressão do gene (ROMÁN-ROSALES et al., 2018).

6 CONCLUSÕES

O câncer de mama já se tornou o tipo mais comum de câncer em diversas partes do mundo, fazendo com que seja cada vez mais importante o estudo e a criação de terapias para combatê-lo. Entretanto, cada tipo de câncer de mama apresenta particularidades e dificuldades, sendo necessários tratamentos diferentes dependendo da classificação.

Apesar das proteínas HER2 e TP53 não fazerem parte da mesma cascata de ativação intracelular, elas atuam sobre processos semelhantes, especialmente a regulação da divisão celular, podendo assim afetar o funcionamento uma da outra (mesmo que indiretamente).

Os prognósticos dos tipos moleculares de cada câncer de mama podem ser agravados por diversos fatores, como visto neste trabalho. O câncer de mama HER2+ é uma neoplasia mais agressiva e móvel e pode ocorrer sem a necessidade de alterações em TP53. Porém, quando combinada com uma mutação *missense* no gene *TP53*, potencializam-se os danos e o prognóstico piora, sendo possível analisar estatisticamente a diferença na mortalidade de cânceres de mama HER2+/P53wt e HER2+/P53 mutante. Todavia é preciso ressaltar que mutações em *TP53* facilitam o aparecimento e a perpetuação de alterações na expressão de HER2, assim como em outros genes e proteínas, então a detecção de TP53 mutante pode ser um sinal de alerta para o início do processo tumoral.

Embora os métodos para obtenção do perfil de expressão do gene *ERBB2* e da proteína HER2 sejam uma forma classificar os carcinomas mamários, estes procedimentos são de custo elevado. De acordo com os dados obtidos neste trabalho e com a literatura especializada, ressalta-se a necessidade do diagnóstico do câncer de mama de forma precoce, além de avaliar as possíveis alterações em *TP53* com o objetivo de oferecer às pacientes melhores perspectivas de sobrevida e tratamento.

7 REFERÊNCIAS

ALLRED, D. C. Ductal Carcinoma in situ: terminology, classification, and natural history. **JNCI Monographs**, v. 2010, n. 41, p. 134–138, 2010. DOI: 10.1093/jncimonographs/lgq035.

ANDERSON, M. et al. Role of proto-oncogene activation in carcinogenesis. **Environmental Health Perspectives**, v. 98, p. 13–24, 1992. DOI: 10.1289/ehp.929813.

ANDRADE, L. et al. Protein molecular modeling of genetic markers for thyroid cancer. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 52, n. 4, p. 324–337, 2016. DOI: 10.5935/1676-2444.20160047.

AYLON, Y.; OREN, M. New plays in the p53 theater. **Current Opinion in Genetics & Development**, v. 21, n. 1, p. 86–92, 2011. DOI: 10.1016/j.gde.2010.10.002.

BÁRTEK, J. et al. Aberrant expression of the p53 oncoprotein is a common feature of a wide spectrum of human malignancies. **Oncogene**, v. 6, n. 9, p. 1699–1703, 1991.

BAUGH, E. H. et al. Why are there hotspot mutations in the TP53 gene in human cancers? **Cell Death & Differentiation**, v. 25, n. 1, p. 154–160, 2018.

BIEGING, K. T.; MELLO, S. S.; ATTARDI, L. D. Unravelling mechanisms of p53-mediated tumour suppression. **Nature Reviews Cancer**, v. 14, n. 5, p. 359–370, 2014. DOI: 10.1038/nrc3711.

BRAY, F. et al. The ever-increasing importance of cancer as a leading cause of premature death worldwide. **Cancer**, v. 127, n. 16, p. 3029–3030, 2021. DOI: 10.1002/cncr.33587.

CASALINI, P.; BOTTA, L.; MÉNARD, S. Role of p53 in HER2-induced proliferation or apoptosis. **Journal of Biological Chemistry**, v. 276, n. 15, p. 12449–12453, 2001. DOI: 10.1074/jbc.M009732200.

CHIAL, H. Proto-oncogenes to oncogenes to cancer. **Nature Education**, v.1 , n.1 , p. 33, 2008. Disponível em: <https://www.nature.com/scitable/topicpage/proto-oncogenes-to-oncogenes-to-cancer-883/>. Acesso em: 13 jul. 2022.

COLLINS, L. C. et al. Outcome of patients with ductal carcinoma in situ untreated after diagnostic biopsy: results from the nurses' health study. **Cancer**, v. 103, n. 9, p. 1778–1784, 2005. DOI: 10.1002/cncr.20979.

COUSSENS, L. et al. Tyrosine kinase receptor with extensive homology to egf receptor shares chromosomal location with neu oncogene. **Science**, v. 230, n. 4730, p. 1132–1139, 1985. DOI: 10.1126/science.2999974.

DARB-ESFAHANI, S. et al. Role of TP53 mutations in triple negative and HER2-positive breast cancer treated with neoadjuvant anthracycline/taxane-based chemotherapy. **Oncotarget**, v. 7, n. 42, p. 67686–67698, 2016. DOI: 10.18632/oncotarget.11891.

ENSEMBL. **Gene: TP53 (ENSG00000141510)**. 2022a. Disponível em: https://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Gene/Summary?db=core;g=ENSG00000141510;r=17:7661779-7687538. Acesso em: 27 jul. 2022.

ENSEMBL. **Gene: ERBB2 (ENSG00000141736)**. 2022b. Disponível em: https://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Gene/Summary?db=core;g=ENSG00000141736;r=17:39687914-39730426. Acesso em: 27 jul. 2022.

FETT-CONTE, A. C.; SALLES, A. B. C. F. A importância do gene p53 na carcinogênese humana. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 24, n. 2, p. 85–89, 2002. DOI: 10.1590/S1516-84842002000200004.

GARRAWAY, L. A.; LANDER, E. S. Lessons from the cancer genome. **Cell**, v. 153, n. 1, p. 17–37, 2013. DOI: 10.1016/j.cell.2013.03.002.

GIULIANO, A. E. et al. Breast cancer-major changes in the American Joint Committee on Cancer eighth edition cancer staging manual: updates to the AJCC Breast TNM Staging System: The 8th Edition. **CA: A Cancer Journal for Clinicians**, v. 67, n. 4, p. 290–303, 2017. DOI: 10.3322/caac.21393.

HANAHAN, D.; WEINBERG, R. A. Hallmarks of Cancer: The Next Generation. **Cell**, v. 144, n. 5, p. 646–674, 2011. DOI: 10.1016/j.cell.2011.02.013.

HICKS, D. G.; KULKARNI, S. HER2+ breast cancer: review of biologic relevance and optimal use of diagnostic tools. **American Journal of Clinical Pathology**, v. 129, n. 2, p. 263–273, 2008. DOI: 10.1309/99AE032R9FM8WND1.

INCA - INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA. **Estimativa 2020: incidência de câncer no Brasil**. Rio de Janeiro: INCA, 2019. 120 p.

INCA - INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA. **Atlas da mortalidade**. Rio de Janeiro: INCA, 2021. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/app/mortalidade> Acesso em: 19 jul 2021.

JOERGER, A. C.; FERSHT, A. R. The p53 pathway: origins, inactivation in cancer, and emerging therapeutic approaches. **Annual Review of Biochemistry**, v. 85, n. 1, p. 375–404, 2016. DOI: 10.1146/annurev-biochem-060815-014710.

JÚNIOR, G. B. C.; KLUMB, C. E.; MAIA, R. C. P53 e as hemopatias malignas. **Revista Brasileira de Cancerologia**, v. 48, n. 3, p. 419–427, 2002. DOI: 10.32635/2176-9745.RBC.2002v48n3.2218.

KEGG. **Breast cancer - Reference pathway**. 2022. Disponível em: <https://www.kegg.jp/pathway/map05224>. Acesso em: 27 jul. 2022.

KILLELA, P. J. et al. TERT promoter mutations occur frequently in gliomas and a subset of tumors derived from cells with low rates of self-renewal. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 110, n. 15, p. 6021–6026, 2013. DOI: 10.1073/pnas.1303607110.

KUYAMA, H. et al. Characterization of N- and C-termini of HER2 protein by mass spectrometry-based sequencing: Observation of two types of N-terminal sequence. **International Journal of Mass Spectrometry**, v. 373, p. 81–87, 2014. DOI: 10.1016/j.ijms.2014.09.010.

LANE, D. P. p53, guardian of the genome. **Nature**, v. 358, n. 6381, p. 15–16, 1992. DOI: 10.1038/358015a0.

LEMMON, M. A.; SCHLESSINGER, J. Cell signaling by receptor tyrosine kinases. **Cell**, v. 141, n. 7, p. 1117–1134, 2010. DOI: 10.1016/j.cell.2010.06.011.

LOHRISCH, C.; PICCART, M. An overview of HER2. **Seminars in Oncology**, v. 28, p. 3–11, 2001. DOI: 10.1016/S0093-7754(01)90103-4.

MASANNAT, Y. A. et al. Pleomorphic LCIS what do we know? A UK multicenter audit of pleomorphic lobular carcinoma in situ. **The Breast**, v. 38, p. 120–124, 2018. DOI: 10.1016/j.breast.2017.12.011.

MOLCHADSKY, A. et al. p53 is balancing development, differentiation and de-differentiation to assure cancer prevention. **Carcinogenesis**, v. 31, n. 9, p. 1501–1508, 2010. DOI: 10.1093/carcin/bgq101.

MUNSKY, B.; NEUERT, G.; VAN OUDENAARDEN, A. Using gene expression noise to understand gene regulation. **Science**, v. 336, n. 6078, p. 183–187, 2012. DOI: 10.1126/science.1216379.

NCBI - NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION. **TP53 tumor protein p53 [Homo sapiens (human)]**. 2022a. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/7157>. Acesso em: 25 jul. 2022.

NCBI - NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION. **ERBB2 erb-b2 receptor tyrosine kinase 2 [Homo sapiens (human)]**. 2022b. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/2064>. Acesso em: 25 jul. 2022.

PAULETTI, G. et al. Detection and quantitation of HER-2/neu gene amplification in human breast cancer archival material using fluorescence in situ hybridization. **Oncogene**, v. 13, n. 1, p. 63–72, 1996.

PEGRAM, M. D.; KONECNY, G.; SLAMON, D. J. The molecular and cellular biology of HER2/neu gene amplification/overexpression and the clinical development of herceptin (Trastuzumab) therapy for breast cancer. In: GRADISHAR, W. J.; WOOD, W. C. (Orgs.). **Advances in Breast Cancer Management. Boston, MA: Springer US**, v. 103, p. 57–75, 2000. DOI: 10.1007/978-1-4757-3147-7_4.

PEREIRA, M. A. A.; CAMARGO, R.; MEDEIROS-NETO, G. Carcinoma Insular da Tireoide. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia**, v. 44, n. 3, p. 257–265, 2000. DOI: 10.1590/S0004-27302000000300011.

ROMÁN-ROSALES, A. A. et al. Mutant p53 gain of function induces HER2 overexpression in cancer cells. **BMC Cancer**, v. 18, n. 1, p. 4–12, 2018. DOI: 10.1186/s12885-018-4613-1.

ROSKOSKI, R. The ErbB/HER receptor protein-tyrosine kinases and cancer. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 319, n. 1, p. 1–11, 2004. DOI: 10.1016/j.bbrc.2004.04.150.

ROTTER, V. p53, a transformation-related cellular-encoded protein, can be used as a biochemical marker for the detection of primary mouse tumor cells. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 80, n. 9, p. 2613–2617, 1983. DOI: 10.1073/pnas.80.9.2613.

SALOMON, D. S. et al. Epidermal growth factor-related peptides and their receptors in human malignancies. **Critical Reviews in Oncology/Hematology**, v. 19, n. 3, p. 183–232, 1995. DOI: 10.1016/1040-8428(94)00144-I.

SANDERS, M. E. et al. Continued observation of the natural history of low-grade ductal carcinoma in situ reaffirms proclivity for local recurrence even after more than 30 years of follow-up. **Modern Pathology**, v. 28, n. 5, p. 662–669, 2015. DOI: 10.1038/modpathol.2014.141.

SCHNEIDER, K. et al. Li-Fraumeni Syndrome. In: ADAM, M. P. et al (Orgs.). **GeneReviews®**. Seattle (WA): University of Washington, Seattle, 2022. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1311/>. Acesso em: 16 ago. 2022.

SESHADRI, R. et al. Clinical significance of HER-2/neu oncogene amplification in primary breast cancer. The South Australian Breast Cancer Study Group. **Journal of Clinical Oncology**, v. 11, n. 10, p. 1936–1942, 1993. DOI: 10.1200/JCO.1993.11.10.1936.

SHAH, C. et al. Management of ductal carcinoma in situ of the breast: a review. **JAMA Oncology**, v. 2, n. 8, p. 1083–1088, 2016. DOI: 10.1001/jamaoncol.2016.0525.

SHIH, C. et al. Transforming genes of carcinomas and neuroblastomas introduced into mouse fibroblasts. **Nature**, v. 290, n. 5803, p. 261–264, 1981. DOI: 10.1038/290261a0.

SILWAL-PANDIT, L. et al. TP53 Mutation spectrum in breast cancer is subtype specific and has distinct prognostic relevance. **Clinical Cancer Research**, v. 20, n. 13, p. 3569–3580, 2014. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-13-2943.

SINN, H. P.; KREIPE, H. A brief overview of the WHO classification of breast tumors, 4th Edition, focusing on issues and updates from the 3rd Edition. **Breast Care (Basel)**, v. 8, n. 2, p. 149-154, 2013. DOI: 10.1159/000350774.

SLAMON, D. J. et al. Human breast cancer: correlation of relapse and survival with amplification of the HER-2/ neu oncogene. **Science**, v. 235, n. 4785, p. 177–182, 1987. DOI: 10.1126/science.3798106.

SLAMON, D. J. et al. Studies of the HER-2/ neu proto-oncogene in human breast and ovarian cancer. **Science**, v. 244, n. 4905, p. 707–712, 1989. DOI: 10.1126/science.2470152.

STEIN, Y.; ROTTER, V.; ALONI-GRINSTEIN, R. Gain-of- function mutant p53: all the roads lead to tumorigenesis. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 24, p. 1–16, 2019. DOI: 10.3390/ijms20246197.

SUNG, H. et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. **CA: A Cancer Journal for Clinicians**, v. 71, n. 3, p. 209–249, 2021. DOI: 10.3322/caac.21660.

TANDON, A. et al. Synchronous thyroid involvement in plasma cell leukemia masquerading as Hashimoto's Thyroiditis: role of ancillary cytology techniques in diagnostic workup. **Endocrine Pathology**, v. 26, n. 4, p. 324–327, 2015. DOI: 10.1007/s12022-015-9392-5.

THE CANCER GENOME ATLAS NETWORK. Comprehensive molecular portraits of human breast tumours. **Nature**, v. 490, n. 7418, p. 61–70, 2012. DOI: 10.1038/nature11412.

THE HUMAN PROTEIN ATLAS. **TP53: tissue**. 2022a. Disponível em: <https://www.proteinatlas.org/ENSG00000141510-TP53/tissue>. Acesso em: 27 jul. 2022.

THE HUMAN PROTEIN ATLAS. **ERBB2: tissue**. 2022b. Disponível em: <https://www.proteinatlas.org/ENSG00000141736-ERBB2/tissue>. Acesso em: 27 jul. 2022.

TIBES, R.; TRENT, J.; KURZROCK, R. Tyrosine kinase inhibitors and the dawn of molecular cancer therapeutics. **Annual Review of Pharmacology and Toxicology**, v. 45, n. 1, p. 357–384, 2005. DOI: 10.1146/annurev.pharmtox.45.120403.100124.

TORRY, D. S.; COOPER, G. M. Proto-oncogenes in development and cancer. **American Journal of Reproductive Immunology**, v. 25, n. 3, p. 129–132, 1991. DOI: 10.1111/j.1600-0897.1991.tb01080.x.

TRAINA, A. et al. HER2/neu expression in relation to clinicopathologic features of breast cancer patients. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1089, n. 1, p. 159–167, 2006. DOI: 10.1196/annals.1386.029.

UNIPROTKB. **P04637** · **P53_HUMAN**. 2022a. Disponível em: <https://www.uniprot.org/uniprotkb/P04637/entry>. Acesso em: 27 jul. 2022.

UNIPROTKB. **P04626** · **ERBB2_HUMAN**. 2022b. Disponível em: <https://www.uniprot.org/uniprotkb/P04626/entry>. Acesso em: 27 jul. 2022.

WANG, S.; EL-DEIRY, W. S. The P53 pathway: targets for the development of novel cancer therapeutics. In: KUMAR, R. (Org.). *Molecular targeting and signal transduction*. **Boston: Kluwer Academic Publishers**, v. 119, p. 175–181, 2004. DOI: 10.1007/1-4020-7847-1_9.

WEIGELT, B.; GEYER, F. C.; REIS-FILHO, J. S. Histological types of breast cancer: How special are they? **Molecular Oncology**, v. 4, n. 3, p. 192–208, 2010. DOI: 10.1016/j.molonc.2010.04.004.

WILLECKE, K.; SCHÄFER, R. Human oncogenes. **Human Genetics**, v. 66, n. 2–3, p. 132–142, 1984. DOI: 10.1007/BF00286587.

WOLFF, A. C. et al. Recommendations for human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer: American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists Clinical Practice Guideline Update. **Journal of Clinical Oncology**, v. 31, n. 31, p. 3997–4013, 2014. DOI: 10.1200/JCO.2013.50.9984.

WOLFF, A. C. et al. HER2 testing in breast cancer: American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists Clinical Practice Guideline Focused Update

Summary. **Journal of Oncology Practice**, v. 14, n. 7, p. 437–441, 2018. DOI: 10.1200/JOP.18.00206.

YARDEN, Y. Biology of HER2 and its importance in breast cancer. **Oncology**, v. 61, Suppl. 2, p. 1–13, 2001. DOI: 10.1159/000055396.

YARDEN, Y.; SLIWKOWSKI, M. X. Untangling the ErbB signalling network. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, v. 2, n. 2, p. 127–137, 2001. DOI: 10.1038/35052073.

ZAMBETTI, G. P. et al. Wild-type p53 mediates positive regulation of gene expression through a specific DNA sequence element. **Genes & Development**, v. 6, n. 7, p. 1143–1152, 1992. DOI: 10.1101/gad.6.7.1143.